

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen

Direktor: Professor Dr. N. Henning

**Das Verhalten der Carboanhydrase
und des antidiuretischen Hormons unter
dem Einfluß von p-Chlorphenyldiaminotriazin
beim Menschen**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität

zu

Erlangen

Vorgelegt von

Rudolf Arras

aus Aachen



Dekan: Prof. Dr. med. G. Hegemann

Referent: Prof. Dr. med. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 3. November 1961



Sonderdruck aus:

» ARZNEIMITTEL-FORSCHUNG «

» DRUG RESEARCH «

Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 11, 621—625 (1961)

Editio Cantor / Aulendorf i. Württ.

*Aus der
Medizinischen Universitätsklinik Erlangen;
Direktor: Professor Dr. N. Henning*

**Das Verhalten der Carboanhydrase
und des antidiuretischen Hormons unter
dem Einfluß von p-Chlorphenyl-
diaminotriazin beim Menschen**

*Herrn Professor Dr. N. Henning
zum 65. Geburtstag gewidmet*

Von

H. Frank und R. Arras



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548816_0177

*Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen;
Direktor: Professor Dr. N. Henning*

Das Verhalten der Carboanhydrase und des antidiuretischen Hormons unter dem Einfluß von p-Chlorphenyldiaminotriazin beim Menschen

Herrn Professor Dr. N. Henning zum 65. Geburtstag gewidmet

Von H. Frank und R. Arras *)

Über den Wirkungsmechanismus der Diuretica bestehen noch erhebliche Unklarheiten. Als einigermaßen aufgeklärt darf man lediglich die Wirkung des Acetazolamids auf die Carboanhydrase der Nierentubuli betrachten.

Von den Triazinverbindungen hat in den letzten Jahren nur das p-Chlorphenyl-2,4-diamino-s-triazin-hydrochlorid (Orpidan®)**) breitere Anwendung gefunden. Über klinische Erfahrungen und die Wirkung auf die Wasser- und Salzausscheidung des Menschen und im Tierversuch ist wiederholt berichtet worden (Lit. bei Esch [2, 3]). Eine Beeinflussung des Adiuretin-Systems durch Triazinverbindungen beobachtete erstmalig Le Sher [4]. Er fand, daß es unter der Wirkung von Triazin bei Ratten in hydriertem Zustande zu einer verzögerten Wasserausscheidung käme und vermutete, daß eine Beziehung zwischen Adiuretin und Triazinverbindungen bestehen könnte. Nach Hypophysektomie wurde bei Zufuhr von 50 ml H₂O/kg und 5 mg Triazin/kg keine antidiuretische Wirkung mehr beobachtet. Le Sher nahm auf Grund seiner Untersuchungen eine antidiuretische Wirkung von Triazin über die Hypophyse an. Durch vermehrte renale Natriumausscheidung sollte dieser diuresehemmende Effekt nach Art einer osmotischen Diurese beim nicht hypophysektomierten Tiere aufgehoben werden. Am Menschen stellte Esch [2, 3] auch im Durstzustande und nach Injektion der den Darm tonisierenden und die Diurese hemmenden Fraktion des Hypophysenhinterlappens (Tonephin®) die diuretische Wirkung von Orpidan fest und fand nach Belastung mit Wasser und gleichzeitiger Verabreichung des Diureticums keine Steigerung der Wasserausscheidung. Sie vermutete, daß die durch Triazin ausgelöste Diurese beim Menschen teilweise durch Hemmung der Adiuretin-Aktivität verursacht sein könnte.

Um einen Beitrag zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus der Triazinverbindungen zu leisten, untersuchten wir die Wirkung von p-Chlorphenyl-2,4-diamino-s-triazin-hydrochlorid auf die Carboanhydrase

*) D 29.

**) Hersteller: Firma L. Heumann & Co., Nürnberg.

menschlicher Erythrozyten und auf die Adiuretin-Aktivität des Plasmas.

Methodik der Carboanhydrase-Bestimmung

Die Carboanhydrasebestimmungen wurden nach der von Roughton u. Booth angegebenen colorimetrischen Methode [6] vorgenommen. Es wird hierbei ein Diäthylbarbitursäure (Veronal®)-Puffer verwendet, der die Fermentaktivität der Carboanhydrase (CAH) nicht beeinflusst. Eine CAH-Standardlösung wurde durch Hämolyse von menschlichem Venenblut (500fache Verdünnung mit Aqua dest.) hergestellt und bei 4° C im Kühlschrank verwahrt.

Durch Bildung von H_2CO_3 aus physikalisch gelöster CO_2 kommt es zu einer pH-Abnahme. Die Zeit, welche nach Zusatz von mit CO_2 gesättigtem Wasser bis zum Umschlag eines Indikators (Bromthymolblau) erforderlich ist, steht in konstantem Verhältnis zur CAH-Konzentration. Um die Reaktionsgeschwindigkeit in einem gut meßbaren Bereich zu halten, wird bei 0° C untersucht. Wenn man die CAH-Konzentration konstant hält, kann man den Einfluß von Inhibitoren ebenfalls durch Messung der Reaktionszeit feststellen.

Bestimmung der Carboanhydrase-Aktivität

In Reagenzgläsern werden 5 ml Veronal-Puffer (4,536 g Veronal-Na und 4,052 g Veronal werden mit Aqua dest. auf 1000 ml verdünnt, pH: 7,76) 3 Tropfen Bromthymolblaulösung (100 mg Bromthymolblau, 8 ml 0,02 n-NaOH, Aqua dest. ad 250 ml) und 5 ml Aqua dest. bzw. mit Aqua dest. auf 3 ml verdünnte Enzymlösungen zugesetzt. Nach gründlichem Mischen wird 15 min in Eiswasser gekühlt. Dann werden 5 ml bei 0° C mit CO_2 gesättigtes Aqua dest. mit einer Spritze durch eine lange Glasnähle, die in das vorgekühlte Gemisch eintauchen soll, so rasch injiziert, daß eine gründliche Durchmischung ohne wesentliche CO_2 -Verluste erzielt wird. Die Reaktionszeit wird mit einer Stoppuhr vom Beginn der Injektion an gemessen. Zum Farbvergleich dient eine Pufferlösung vom pH 6,3 (1,31 g $Na_2HPO_4 \times 2 H_2O$, 3,54 KH_2PO_4 , Aqua dest. ad 500 ml), die ebenfalls mit Indikator versetzt und im Kältebad gekühlt wird.

Um die Aktivität der hämolytierten Lösung zu bestimmen, wurde eine Eichkurve mit wechselnden Fermentmengen aufgestellt (Abb. 1).

Nach Maren [5] wurde 1 Einheit als diejenige Menge definiert, welche die Hydratationsgeschwindigkeit verdoppelt. Bei der für alle Untersuchungen benutzten Standardlösung wurden 0,8 ml als 1 Aktivitätseinheit ermittelt.

Nachweis der Carboanhydrase-Hemmung

Zur Bestimmung der Fermenthemmung wurde die Enzymkonzentration durch Zusatz von je 1,6 ml = 2 E hämolyzierter Blutlösung konstant gehalten. Es wurde damit ein Punkt auf dem steilen Schenkel der Dosis-Wirkungs-Kurve gewählt, so daß auch bei geringer

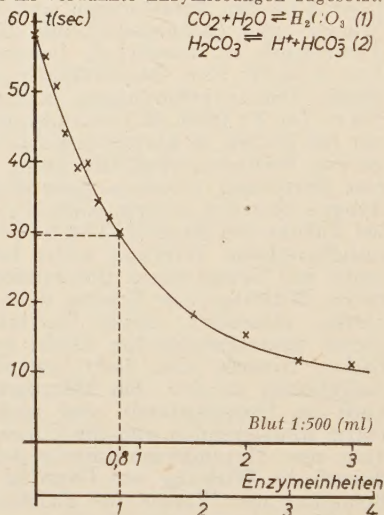


Abb. 1: CAH-Aktivität einer hämolytierten Venenblutverdünnung (1:500 mit Aq. dest.).

Fermenthemmung die Zeitunterschiede meßbar blieben. Das Gesamtvolumen des Reaktionsgemisches wurde durch Zusatz gleicher Mengen der zu prüfenden Lösungen konstant gehalten. Sonst wurde wie bei der Bestimmung der CAH-Aktivität verfahren.

Ergebnisse

Zum Vergleich wurde zunächst die Wirkung einer 1 mg/100 ml enthaltenden Lösung von Acetazolamid untersucht. Die bei Zusatz wechselnder Mengen gemessenen Reaktionszeiten sind in Abb. 2 dargestellt.

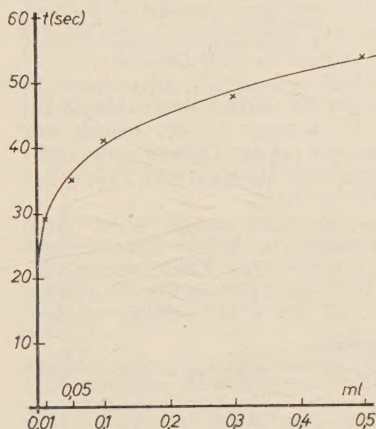


Abb. 2: Hemmung der CAH-Aktivität durch Acetazolamid

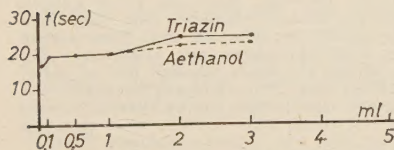


Abb. 3: Wirkung einer Lösung von 100 mg/100 ml Orpidan in 40%igem Äthanol (—) und von 40prozentigem Äthanol (---) auf die CAH-Aktivität.

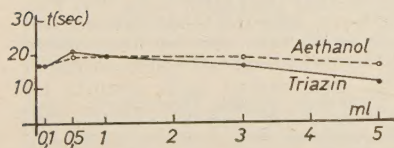


Abb. 4: Wirkung einer Lösung von 100 mg/100 ml Orpidan, in absolutem Äthanol (—) und von Äthanol allein (---) auf die CAH-Aktivität.

Bestimmung der CAH-Aktivität unter der Wirkung von Orpidan

Die Verbindung ist in Wasser sehr schlecht, in HCl dagegen gut löslich (100 mg/100 ml). Die salzsaure Lösung eignet sich wegen der hohen Wasserstoffionenkonzentration bei der benutzten Versuchsanordnung nicht zur Bestimmung der CAH-Hemmung.

Außerdem ist bereits das Chloridion ein starker CAH-Inhibitor. Es wurden daher Lösungen von 100 mg/100 ml Orpidan in 40%igem Äthanol und in abs. Äthanol sowie von 1000 mg/100 ml in 1,2-Propylenglykol verwendet.

Die Abb. 3 u. 4 zeigen das Verhalten einer 100 mg/100 ml enthaltenden Orpidan-Lösung in 40%igem und abs. Äthanol. Die Lösungsmittel ohne Triazin wurden ebenfalls auf ihre fermenthemmenden Fähigkeiten untersucht. Wie den Ab-

bildungen zu entnehmen ist, fand sich für im Vergleich zum Versuch mit Acetazolamid um 10^2 höhere Konzentrationen keine CAH-Hemmung.

Ebensowenig hatten die Lösungsmittel einen Einfluß auf die Fermentaktivität.

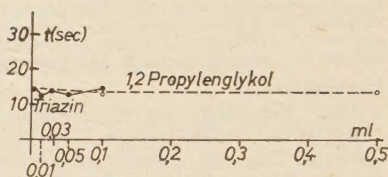


Abb. 5: Wirkung einer Lösung von 1000 mg/100 ml Orpidan in 1,2-Propylenglykol (—) und von 1,2-Propylenglykol allein (---) auf die CAH-Aktivität.

Wie Abb. 5 erkennen läßt, erwies sich auch eine Lösung von 1000 mg Triazin in 100 ml Propylenglykol nicht fermenthemmend. Es konnte hierbei jedoch nur die Wirkung von maximal 0,1 ml der Lösung untersucht werden, da bei Zusatz größerer Mengen eine Präzipitation der Triazinverbindung auftrat.

Wie die Untersuchungsergebnisse zeigen, wird durch das p-Chlorphenyldiaminotriazin keine Verzögerung der Hydratationsgeschwindigkeit der Kohlensäure verursacht. Die diuretische Wirksamkeit von Orpidan kann daher nicht durch Hemmung der CAH erklärt werden.

Methodik der Adiuretin-Bestimmung

Wir benutzen die von E. Buchborn [1] angegebene Methode. Es wurden einheimische männliche Erdkröten (*Bufo vulg.*) mit einem Gewicht von 25–45 g verwendet; sie wurden mit Mehlwürmern gefüttert und im Terrarium gehalten. 24 h vor den Versuchen erhielten sie kein Futter mehr, um Störungen durch den Kloakeninhalt aus dem Darm bei der Bestimmung der Diurese zu vermeiden. 6–8 h vor Versuchsbeginn wurden sie zur Einstellung eines Wassergleichgewichtes in chlorfreies Wasser gebracht. Häutende Tiere wurden ausgeschieden, da bei ihnen für mehrere Stunden eine vermehrte Wasseraufnahme beobachtet wird. Das Gewicht der Tiere wurde stündlich auf 50 mg genau nach Abtrocknen mit Fließpapier bestimmt. Dann wurde durch Druck auf beide Flanken und anschließende Expression der Harnblase eine Urinentleerung ausgelöst und die Gewichts Differenz durch eine zweite Wägung ermittelt. Sie entspricht der ausgeschiedenen Harnmenge. Da Kröten, wenn man die manuellen Irritationen gering hält, nur in mehrstündigen Intervallen urinieren, kann man auf diese Weise die Diurese genau erfassen. Inkonstante Gewichtszunahmen durch orale Wasseraufnahme brauchen nicht berücksichtigt zu werden, da Amphibien im hypotonen Milieu nicht trinken. Während des eigentlichen Testes befanden sich die Tiere in Glasgefäßen, die zur Vermeidung von Schwankungen der Melanophoren-Hormonaktivität auf gleichbleibendem Farbumtergrund standen und gegen grelles Licht abgeschirmt waren. Das Wasser besaß Zimmertemperatur. Durch einen Maschendrahteinsatz wurde gewährleistet, daß lediglich der Kopf der Tiere den Wasserspiegel überragte. Unter diesen Bedingungen ist die endogene Adiuretin-Produktion ausgeschaltet [1].

In einer dreistündigen Vorperiode wurden Tiere, deren Harnportionen außerhalb des 3 σ -Wertes (11,5% nach Buchborn) der mittleren Diurese lagen, ausgeschieden, da sie sich nicht im Wassergleichgewicht befanden. Anschließend erfolgte die Hydrierung der Tiere durch Injektion von 0,5 ml/10 g Körpergewicht Aqua dest. in den dorsalen Lymphsack. Hierdurch wird eine Wasserdurese ausgelöst, deren Größe in konstantem Verhältnis zu der jeweils zugeetzten Adiuretin-Menge steht. Bei der Injektion gingen wir durch

die Oberschenkelmuskulatur ein, um Flüssigkeitsverluste durch den Stichkanal zu verhüten. Nach der Injektion wurde die Diurese stündlich über 2 h in der angegebenen Weise bestimmt. Die Mittelwerte beider Perioden wurden in % der Ausscheidung während der Vorperioden ausgedrückt. Die prozentuale Diuresehemmung ist ein Maß der Adiuretin-Konzentration.

Zur Ermittlung einer Dosis-Wirkungs-Kurve wurden 4 Tierkollektive zu je 5 Tieren angesetzt. Ein Kollektiv erhielt je 0,05, ein weiteres 0,2, und 2 Kollektive je 0,1 mE antidiuretisches Hormon (ADH - Adiuretin). Die angegebenen ADH-Dosen bezeichnen hierbei die pro 10 g Körpergewicht injizierten Mengen. Die Standardlösung wurde aus Tonephin „Hoechst“[®] hergestellt. Gleichzeitig wurde die Wirkung von menschlichem Plasma geprüft, das nach 12 h Flüssigkeitskarenz entnommen wurde.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in den Tab. 1 u. 2 enthalten. In Abb. 6 sind die Zusammen-

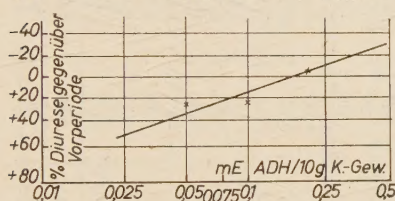


Abb. 6: Dosis-Wirkungs-Kurve von Tonephin „Hoechst“, gemessen an der Diuresehemmung der hydrierten Erdkröte.

hänge auf Wahrscheinlichkeitspapier (Schleicher u. Schüll Nr. 297^{1/2}) als Dosis-Wirkungs-Gerade dargestellt. Wie Buchborn [1] zeigte, ist die Reaktion der hydrierten Erdkröte auf Säugetier-ADH durch eine konstante Neigung der Dosis-Wirkungs-

Geraden charakterisiert. Die Neigung der von uns ermittelten Linie in Abb. 6 entspricht etwa den Angaben von Buchborn. Der ADH-Spiegel des untersuchten Plasmas nach 12 h Flüssigkeitskarenz beträgt danach etwa 0,5 mE ADH und liegt damit in günstigem Meßbereich.

Da es bei unseren Untersuchungen nur auf die relative Änderung der ADH-Aktivität ankam, wurde darauf verzichtet, die Wirkung einer bekannten Testlösung täglich mitzubestimmen.

Um die Wirkung von Orpidan auf die ADH-Aktivität des menschlichen Plasmas zu prüfen, wurde den Versuchspersonen nach 12 h Flüssigkeitskarenz einmal vor Verabreichung des Medikaments und dann nach Beginn der Diurese Blut entnommen. In einem Falle erfolgte eine weitere Blutentnahme 2 h nach dem Diuresebeginn. Die verabreichte Orpidan-Dosis betrug 2 mg/kg Körpergewicht. Bis zur letzten Blutentnahme wurde keine Flüssigkeitsaufnahme gestattet, um eine Änderung des Adiuretin-Spiegels infolge exogener Flüssigkeitszufuhr zu vermeiden. Das entnommene Blut wurde bei 3000

Tab. 1

Diuresewerte der Vorperiode (g)				σ	Injektion	Diuresewerte der Nachperiode (g)		Mittelwert	σ	mittl. % Abw. gg. Vorperiode
n. 1 h	n. 2 h	n. 3 h				n. 1 h	n. 2 h			
1,24	—	1,22	1,25	0,014	0,1 mE ADH /10 g K.G.	0,90	1,45	1,17	0,388	+50%
1,20	1,50	1,50	1,40	0,175		2,70	2,15	2,42	0,388	
0,80	0,75	0,75	0,76	0,056		1,80	1,27	1,55	0,374	
0,75	0,95	0,75	0,82	0,115		1,28	0,90	1,09	0,268	
0,90	1,05	1,15	1,05	0,125	0,2 mE ADH /10 g K.G.	1,20	0,25	0,72	0,671	— 5%
1,25	1,20	—	1,22	0,026		1,85	1,25	1,55	0,424	
2,55	2,54	2,60	2,50	0,150		5,90	2,10	5,00	1,269	

Tab. 2

1,50	1,18	1,50	1,55	0,156	0,5 Serum/10 g K.G.	1,15	1,02	1,09	0,092	—20%
1,25	1,58	1,59	1,47	0,194		0,75	0,58	0,66	0,106	
0,82	0,65	0,75	0,72	0,095		0,45	1,05	0,75	0,424	
1,15	1,75	1,85	1,58	0,378	0,1 mE ADH /10 g K.G.	2,57	0,95	1,76	1,145	± 0%
2,15	2,15	2,67	2,51	0,512		2,45	2,17	2,51	0,198	
1,64	1,65	1,80	1,70	0,089		2,50	1,57	1,94	0,165	
1,65	1,55	1,22	1,47	0,222	0,05 mE ADH /10 g K.G.	2,00	1,80	1,90	0,141	+26%
0,88	0,80	1,27	0,98	0,251		1,65	0,75	1,20	0,656	

Tab. 3: Verhalten der ADH-Aktivität im Blut unter Wirkung von Orpidan. R. A., männl., 27 J., 90 kg, gesund, 225 mg Orpidan per os.

2,22	2,20	2,40	2,27	0,110	nach 12 h Flüssigkeitskarenz	1,60	1,70	1,65	0,071	-26%
0,60	0,65	0,80	0,68	0,108		0,55	0,55	0,55	0,000	
1,22	1,45	1,45	1,57	0,155		0,15	1,85	1,00	1,200	
0,45	0,70	0,46	0,54	0,141	nach Einsetzen der Diurese	0,95	1,20	1,08	0,177	+25%
0,40	0,47	0,45	0,45	0,050		0,70	0,85	0,78	0,106	
0,92	0,90	—	0,91	0,014		0,70	0,60	0,65	0,070	
0,70	0,60	0,85	0,72	0,109		0,40	1,05	0,75	0,459	
0,62	0,55	0,60	0,59	0,056	2 h nach Diuresebeginn	1,15	0,90	1,05	0,177	+57%
0,50	0,27	0,50	0,29	0,017		0,55	0,85	0,70	0,235	
—	0,60	0,70	0,65	0,071		0,85	0,50	0,68	0,247	

Tab. 4: Verhalten der ADH-Aktivität im Blut unter Wirkung von Orpidan. B. F., weibl. 24 J., 50 kg, gesund, 112,5 mg Orpidan

0,50	0,35	—	0,53	0,056	nach 12 h Flüssigkeitskarenz	0,10	0,45	0,27	0,247	-54%
1,50	1,50	1,55	1,58	0,104		1,95	1,50	1,72	0,518	
1,05	1,20	—	1,15	0,106		0,40	0,15	0,27	0,177	
0,90	1,25	1,10	1,08	0,166		0,75	0,15	0,45	0,424	-25%
1,25	1,50	1,55	1,56	0,127	nach Diuresebeginn	1,00	1,25	1,15	0,177	
0,95	1,05	1,25	1,08	0,155		0,45	0,55	0,40	0,022	
1,80	2,08	1,90	1,95	0,142		1,77	1,70	1,74	0,158	

Tab. 5: Verhalten der ADH-Aktivität unter Wirkung von Orpidan. F. M., weibl., 45 J., 65 kg, dekompensierte Herzinsuffizienz mit starken Ödemen, 150 mg Orpidan

Diuresewerte der Vorperiode (g)				σ	Injektion	Diuresewerte der Nachperiode (g)		Mittelwert	σ	mittl. % Abw. gg. Vorperiode
n. 1 h	n. 2 h	n. 3 h				n. 1 h	n. 2 h			
0,92	0,77	0,78		0,087		0,95	0,78	0,86	0,120	
1,55	1,35	1,57		0,110	nach 12 h Flüssigkeitskarenz	1,57	1,20	1,38	0,262	
1,40	1,48	1,55		0,066		0,88	0,85	0,86	0,071	-16%
1,20	1,18	1,05		0,081		0,92	1,00	0,96	0,056	
0,95	0,97	0,80		0,081	nach Einsetzen der Diurese	0,92	1,15	1,04	0,165	
0,85	0,75	0,72		0,072		0,98	0,67	0,83	0,219	+ 6%
0,65	0,72	0,65		0,047		1,08	0,85	0,96	0,177	
0,65	0,65	0,55		0,069		0,80	0,90	0,85	0,022	

Tab. 6: Verhalten der ADH-Aktivität im Blut unter Wirkung von Orpidan. I. K., weibl., 58 J., 65 kg, Ödeme, 150 mg Orpidan

Diuresewerte der Vorperiode (g)				σ	Injektion	Diuresewerte der Nachperiode (g)		Mittelwert	σ	mittl. % Abw. gg. Vorperiode
n. 1 h	n. 2 h	n. 3 h				n. 1 h	n. 2 h			
1,40	0,95	0,95		0,211		1,01	0,95	0,98	0,042	
1,05	0,97	0,99		0,041	nach 12 h Flüssigkeitskarenz	0,95	0,80	0,86	0,092	
0,85	0,80	0,70		0,068		0,57	1,02	0,69	0,459	-24%
1,35	1,10	1,25		0,115		0,50	1,00	0,75	0,555	
1,95	1,85	2,42		0,504		1,50	1,50	1,40	0,141	
0,65	0,61	0,55		0,042		0,80	0,98	0,89	0,127	
0,75	0,68	0,70		0,056	nach Einsetzen der Diurese	0,75	0,95	0,85	0,141	+15%
0,95	—	1,05		0,056		0,90	0,90	0,90	0,000	
1,50	1,28	1,55		0,150		1,55	1,60	1,58	0,056	

Umdrehungen/min zentrifugiert. Die Versuchstiere erhielten Injektionen von 0,5 ml Plasma/10 g Körpergewicht in den dorsalen Lymphsack.

Kasuistik

R. A., ♂, 27 Jahre, 90 kg, gesunde Versuchsperson

B. F., ♀, 24 Jahre, 50 kg, gesunde Versuchsperson

E. M., ♀, 45 Jahre, 65 kg, dekompensierte Herzinsuffizienz mit starken Ödemen

I. K., ♀, 58 Jahre, 65 kg, cardiale Ödeme

A. B., ♀, 65 Jahre, 60 kg, cardiale Ödeme

A. Z., ♀, 58 Jahre, 80 kg, Adipositas Leberparenchymschaden

E. E., ♀, 65 Jahre, 81 kg, Adipositas

Ergebnisse der Adiuretin-Bestimmungen

Die Tab. 3 zeigt das Verhalten eines 27jährigen gesunden Mannes nach Gabe von 225 mg Orpidan. Während sonst nur vor der Verabreichung des Diureticums und nach Beginn der Diurese Blut entnommen wurde, erfolgte in diesem Falle eine weitere Entnahme etwa 2 h nach Diurese-Beginn. Die antidiuretische Aktivität des Plasmas sank stark ab. Die Abnahme betrug bis zum Beginn der Diurese etwa 0,33 mE ADH und nach weiteren 2 h nochmals 0,05 mE. In Tab. 4 ist das Verhalten einer 24jährigen, gleichfalls gesunden Frau dargestellt. Bei einer Dosis von 112,5 mg Orpidan nahm die ADH-Aktivität um 0,14 mE ab.

Bei einer Patientin mit Herzinsuffizienz und starken Ödemen (Tab. 5) zeigte sich nach dem Diureticum eine Aktivitätsabnahme um 0,15 mE.

In den Tab. 6 u. 7 sind die an 2 Ödem-Patientinnen ermittelten Ergebnisse festgehalten. Es kam zu einer Aktivitätsabnahme von 0,28 mE im Falle I. K. und von 0,18 mE bei A. B.

Bei einer Patientin mit Adipositas und Leberparenchymschaden kam es zu einer Senkung der ADH-Aktivität um 0,144 mE (Tab. 8) und im Falle E. E. (Tab. 9) wurde ein Abfall um 0,13 mE beobachtet.

Um auszuschließen, daß die diuretische Wirkung des nach Verabreichung von Orpidan injizierten Plasmas bei den Kröten durch den Triazingehalt des Plasmas verursacht wurde, haben wir 2 Versuchsreihen angesetzt, bei denen die Tiere Triazinlösungen injiziert bekamen.

Es wurden je 2 Tierkollektive mit 2×5 Tieren angesetzt. Einer Gruppe wurde die Triazinlösung, einer weiteren das verwendete Lösungsmittel injiziert.

Bei Annahme eines extrazellulären Flüssigkeitsraumes von 15 l errechnete sich bei der von uns verabreichten Höchstdosis von 225 mg Orpidan eine Triazin-Konzentration von 1,5 mg%. Hierbei wurde vorausgesetzt, daß die gesamte verabreichte Dosis resorbiert und nur extrazellulär verteilt wurde. In Wirklichkeit dürften

Tab. 7: Verhalten der ADH-Aktivität im Blut unter Wirkung von Orpidan. A. B., weibl., 65 J., 60 kg, Ödeme, 150 mg Orpidan

Diuresewerte der Vorperiode (g)			Mittelwert	σ		Injektion		Diuresewerte der Nachperiode (g)		Mittelwert	o	
n. 1 h	n. 2 h	n. 3 h				0,5 ml / 10 g K.G.		n. 1 h	n. 2 h			
0,77	0,75	0,76	0,75	0,021				0,95	0,55	0,75	0,282	
0,77	0,97	0,88	0,87	0,052		nach 12 h		0,10	0,25	0,18	0,106	
0,72	0,60	0,72	0,68	0,069		Flüssigkeitskarenz		0,57	0,55	0,36	0,141	
0,45	0,50	0,50	0,48	0,029				0,67	0,90	0,78	0,165	-14%
0,55	0,47	0,52	0,50	0,055				0,85	0,75	0,80	0,071	
0,52	0,52	0,62	0,55	0,057				1,05	0,75	0,90	0,212	
0,85	0,85	0,85	0,84	0,012		nach Einsetzen der Diurese		1,25	1,00	1,15	0,177	
1,20	1,30	1,25	1,25	0,050				1,08	1,15	1,11	0,056	+18%
1,00	0,77	0,85	0,87	0,116				0,50	1,67	0,98	0,947	
0,95	0,98	0,95	0,95	0,029				1,22	1,05	1,14	0,120	

Tab. 8: Verhalten der ADH-Aktivität des Plasmas unter Wirkung von Orpidan. A. Z., weibl., 58 J., 80 kg, Adipositas, Verdacht auf Leberparenchymschaden, 187,5 mg Orpidan

1,20	1,10	1,08	1,15	0,064		nach 12 h		2,20	1,50	1,75	0,657	
2,10	2,40	2,60	2,37	0,251		Flüssigkeitskarenz		1,80	5,40	2,60	1,151	
0,88	0,88	0,95	0,90	0,041				2,50	1,50	1,90	0,848	-50%
0,50	0,60	0,60	0,57	0,057				0,40	0,98	0,69	1,296	
1,10	0,95	1,05	1,05	0,076		nach Einsetzen der Diurese		1,98	1,22	1,60	0,537	
0,72	0,85	0,60	0,72	0,124				1,55	1,41	1,57	0,057	
0,50	0,40	0,60	0,50	0,100				1,12	0,78	0,95	0,240	± 0%

Tab. 9: Verhalten der ADH-Aktivität des Plasmas unter Wirkung von Orpidan. E. E., weibl., 65 J., 81 kg, Adipositas, 225 mg Orpidan

0,95	1,10	1,05	1,05	0,087		nach 12 h		0,97	1,27	1,12	0,212	
0,75	0,97	0,95	0,89	0,122		Flüssigkeitskarenz		1,09	0,59	0,84	0,555	-2%
1,50	1,45	1,26	1,40	0,125				2,00	0,48	1,24	1,075	
0,70	0,85	0,92	0,82	0,121				0,75	1,01	0,88	0,184	
1,02	1,08	1,18	1,09	0,081		nach Einsetzen der Diurese		1,15	2,25	1,69	0,765	
1,55	1,55	1,20	1,50	0,086				1,95	1,19	1,56	0,522	
0,55	0,65	0,60	0,60	0,030				0,92	0,54	0,73	0,269	

Tab. 10: Diuresehemmung durch eine 1,5 mg% Triazinlösung in Serum

0,60	0,60	0,55	0,58	0,029	1,57	0,70	1,05	0,475
1,05	0,95	0,95	0,98	0,058	1,25	1,20	1,22	0,056
—	0,70	0,65	0,68	0,056	0,70	0,90	0,80	0,141
0,70	0,62	0,60	0,64	0,052	0,60	1,15	0,87	0,388
0,75	0,65	0,65	0,68	0,058	1,15	1,00	1,07	0,106
0,65	0,72	0,67	0,68	0,056	0,95	0,95	0,95	0,000
1,25	1,15	1,15	1,15	0,100	1,00	1,05	1,05	0,056
0,70	0,65	0,70	0,68	0,029	0,65	1,20	0,95	0,388

Tab. 11: Diuresehemmung durch eine 20 mg% Triazinlösung in n_{150} HCl

2,10	2,10	1,90	2,03	0,115	1,50	1,65	1,58	0,106
1,42	1,35	1,15	1,51	0,140	0,45	1,55	0,90	0,656
0,95	0,98	0,80	0,90	0,065	1,00	1,10	1,05	0,071
0,60	0,67	0,72	0,66	0,060	0,75	1,05	0,90	0,212
1,15	1,10	1,10	1,12	0,029	1,45	0,85	1,15	0,424
1,20	1,13	1,10	1,14	0,051	1,60	1,15	1,38	0,518
1,10	1,27	—	1,18	0,120	1,12	1,20	1,16	0,057

Tab. 12: Diuresehemmung durch eine 2 mg% Triazinlösung in n_{150} HCl mit 0,55 mE ADH/05 ml Lösung sowie durch n_{150} HCl mit 0,55 mE ADH/0,5 ml Lösung

0,60	0,58	0,60	0,59	0,012	0,65	1,35	1,00	0,495
0,80	0,65	0,70	0,72	0,076	0,85	1,55	1,10	0,555
0,75	0,85	0,65	0,74	0,090	0,55	0,75	0,65	0,141
0,85	0,65	0,65	0,72	0,115	0,75	0,95	0,85	0,141
0,40	0,45	0,45	0,45	0,029	0,80	0,80	0,80	0,000
—	0,90	0,90	0,90	0,000	1,60	1,15	1,37	0,518
0,85	0,95	0,90	0,89	0,041	1,12	1,50	1,21	0,127
—	1,40	1,60	1,50	0,141	2,00	1,50	1,75	0,555
0,70	0,77	0,80	0,76	0,041	1,50	1,45	1,57	0,106
1,40	1,45	1,65	1,50	0,152	1,50	2,15	1,75	0,600

die Spiegel im Plasma unter diesem geschätzten Wert liegen.

Tab. 10 gibt die Resultate für eine 1,5 mg^o/ige Orpidan-Lösung in Serum und für Serum ohne Triazinzusatz wider. Es erwies sich, daß die Orpidan-Lösung weniger diuretisch wirksam war als das Serum allein. Die Differenz betrug etwa 0,02 mE.

Schließlich untersuchten wir noch die Wirkung einer 20 mg^o/igen Orpidan-Lösung in n/150-HCl (Tab. 11). Auch hier fand sich, daß die Triazinlösung weniger stark diuretisch wirkte als die salzsaure Lösung allein. Der Unterschied betrug in diesem Versuch etwa 0,11 mE. Nach den mitgeteilten Ergebnissen kann eine direkte Wirkung des Triazins auf die Nierenfunktion der Kröte in der von uns benutzten Versuchsanordnung also ausgeschlossen werden.

Schließlich legten wir uns die Frage vor, ob die unter dem Einfluß von Orpidan im menschlichen Plasma beobachtete Abnahme der ADH-Aktivität vielleicht durch eine direkte Hemmung des ADH im Blute verursacht wird.

2 Kollektive von je 5 Tieren erhielten Injektionen einer 2 mg^o/igen Orpidan-Lösung in n/750 HCl mit einem Gehalt von 0,35 mE ADH/0,5 ml bzw. einer n/750-HCl-Lösung mit ebenfalls 0,35 mE ADH/0,5 ml (Tab. 12). Wie Tab. 12 zeigt, kam es unter dem Einfluß der Triazinverbindung zu einer geringen Senkung der Aktivität des ADH. Die Differenz betrug nur 0,007 mE und liegt sicher noch innerhalb des Fehlerbereiches der Methode. Eine direkte Hemmwirkung des Orpidans auf die ADH-Aktivität konnte daher nicht nachgewiesen werden.

Diskussion

Ob die ermittelten ADH-Konzentrationen mit dem tatsächlichen Adiuretin-Gehalt des Plasmas gleichgesetzt werden dürfen, ist zweifelhaft, da nur unverändertes Plasma zur Untersuchung gelangte. Es kam in den vorliegenden Untersuchungen jedoch nur auf relative Veränderungen an. Meistens wurde nur von Aktivitätsänderungen gesprochen.

Die nachgewiesene Aktivitätsabnahme des ADH ist von renalen Wirkungsmechanismen weitgehend unabhängig, da die Bestimmungen im menschlichen Plasma erfolgten. Die Annahme einer verstärkten Adiuretin-Inaktivierung oder einer vermehrten Ausscheidung durch die Nieren hat keine große Wahrscheinlichkeit für sich.

Gegen die Annahme einer direkten Wirkung von Triazinverbindungen auf das Adiuretin spricht die Beobachtung, daß die Hemmung der Diurese durch gleiche ADH-Dosen mit und ohne Orpidan-Zusatz übereinstimmt.

Eine Fälschung der vorliegenden Ergebnisse durch eine diuretische Wirkung der injizierten Orpidan-Mengen auf die Harnausscheidung der Versuchstiere wurde durch Versuche ausgeschlossen, in welchen normale und höchste Triazindosen keine vermehrte Harnproduktion erkennen ließen.

Es wurde aus den Ergebnissen der beschriebenen Untersuchungen daher geschlossen, daß es nach Zufuhr von Orpidan im menschlichen Plasma zu einer Aktivitätsabnahme des antidiuretischen Prinzips kommt. Die größte Wahrscheinlichkeit hat die Annahme einer Hemmung der ADH-Produktion des Hypophysenhinterlappens für sich.

Es ist jedoch nicht anzunehmen, daß die Wirkung von Triazinverbindungen sich nur auf die Hypophyse bzw. die Hemmung der Aktivität des ADH beschränkt. Die vermehrte Salzausscheidung im Urin ist nur durch eine direkte Wirkung auf die Nieren zu erklären. Das häufige Überwiegen der Wasserdurese würde in der von uns gefundenen Hemmung der Aktivität des ADH eine plausible Erklärung finden.

Die Beobachtungsergebnisse von Esch [2, 3] bei der Wasserdurese, im Durstzustande und nach Injektion von ADH werden durch unsere Untersuchungen in allen Punkten bestätigt. Im Gegensatz zu Le Sher fanden wir beim Menschen keine antidiuretische Wirkung der Triazine. Eine Erklärung für diese Diskrepanz der Beobachtungen bei Versuchen mit Ratten im Vergleich zu unseren Untersuchungen am Menschen haben wir nicht.

Zusammenfassung

Es wurde die Wirkung von p-Chlorphenyl-2,4-diamino-s-triazinhydrochlorid (Orpidan®) auf die Carboanhydrase von menschlichen Erythrocyten und auf die antidiuretische Aktivität des menschlichen Plasmas nach Verabreichung des Diureticums untersucht. Es fand sich keine Hemmung der Carboanhydrase, während die Aktivität des antidiuretischen Hormons (ADH = Adiuretin) nach Verabreichung von Orpidan eine deutliche Abnahme erkennen ließ. Diese Verminderung der Aktivität ließ sich in vitro nicht durch Inkubation von ADH mit Triazin erreichen. Es wird vermutet, daß es zu einer Hemmung der Hypophysenhinterlappenproduktion kommt.

Summary

Reactions of Carbo-Anhydrase and Anti-Diuretic Hormone under the Influence of p-Chlorophenyldiaminotriazine in Human Beings

The authors have investigated the effect of p-chlorophenyl-2,4-diamino-s-triazine-hydrochloride (Orpidan®) on the carboanhydrase in human erythrocytes and on

the anti-diuretic activity of human plasma following application of the diuretic drug. No inhibition of carbonhydrase was observed whereas the activity of anti-diuretic hormone (ADH = Adiuretin) was found considerably reduced following application of Orpidan. This reduction of activity was not observed in vitro following incubation of ADH with triazine. It may thus be concluded that inhibition of the production of posterior pituitary hormone occurs.

Literatur

- [1] Buchborn, E., Zeitschr. exp. Med. **125**, 614 (1955)
- [2] Esch, I., Dtsch. med. Wschr. **84**, 1551 (1959)
- [3] Esch, I., Saiko, G., Wiener klin. Wschr. 646 (1959)
- [4] Le Sher, D. A., Dissertation 1956, University of Madison, Wisconsin, USA
- [5] Maren, Th. H., Ash, V. and Bailey, jr., E. M., Bull. Johns Hopkins Corp. **95**, 244 (1956)
- [6] Roughton, F. I. W. and Booth, V. H., Biochem. J. **40**, 311—326 (1946)

Verantwortlich für die Redaktion: Dr. W. Saenger; Verlag: Editio Cantor, Aulendorf i. Würt., Telefon 431; Druck: Vereinigte Buchdruckereien, A. Sandmaier & Sohn, Buchau a. F.

Bezugsbedingungen: Die Zeitschrift erscheint monatlich einmal. Sie kann vom Verlag oder durch eine Buchhandlung bezogen werden. Der Bezugspreis beträgt im Abonnement pro Quartal (3 Hefte) 14,— DM einschl. Versandkosten. Das Einzelheft kostet 5,— DM zuzügl. Versandkosten. Kostenlose Probehefte liefert der Verlag auf Anforderung. Auslandsabonnements errechnen sich einschließlich Versand auf der Basis von 64,— DM pro Jahr.

Lebenslauf

Ich, Rudolf, Philipp, Hasso Arras, wurde am 30. 10. 1931 in Hildesheim | Niedersachsen als zweiter Sohn des prakt. Arztes Dr. med. Ernst-Georg Arras und seiner Ehefrau Berta geb. Böhm geboren.

Von 1938 - 1941 besuchte ich die Volksschule in Bad Berneck | Fichtelgebirge und von 1942 - 1951 die Knaben-Oberrealschule in Bayreuth | Oberfranken, an der ich im Juli 1951 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Winter-Semester 1951 | 52 bis zum Sommer-Semester 1957 war ich an der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen in der Medizinischen Fakultät immatrikuliert. Im April 1954 bestand ich die Ärztliche Vorprüfung und im Juni 1957 das Medizinische Staatsexamen.

Anschließend war ich an der Universitäts-Hautklinik, Erlangen, im Städt. Krankenhaus „Ludwigstift“, Edenkoben (Pfalz) und am Luisenhospital, Aachen, als Medizinalassistent tätig.

Seit Dezember 1960 bin ich in der geburtshilflich-gynaekologischen Abteilung des Luisenhospitals, Aachen, (Leiter: Professor Dr. G. Gaehtgens) zur Fachausbildung.

Am 14. 6. 1960 heiratete ich.

